

IN SITU -BIOREMEDIAATION MALLINNUS PILOT-MITTAKAASSA

LAHDEN AMMATTIKORKEAKOULU
Tekniikan ala
Ympäristötekniikan koulutusohjelma
Ympäristöbiotekniikka
Opinnäytetyö
18.10.2010
Harri Talvenmäki

Lahden ammattikorkeakoulu
Tekniikan laitos
Ympäristötekniikan koulutusohjelma

TALVENMÄKI, HARRI: In situ –bioremediaation mallinnus pilot-mittakaavassa

Ympäristöbiotekniikan opinnäytetyö, 42 sivua

Syksy 2010

TIIVISTELMÄ

Tämä opinnäytetyö käsittelee kemiallisen hapettimen, surfaktanttina käytettävän syklodekstriinin sekä ravinnelisäysten avulla tehostettua diesel-saastuneen maan biologista kunnostusta. Pilot-mittakaavan mallinnuksessa käytettiin kunnostettava varikkoalueelta kaivettua maata, jonka diesel-pitoisuus kokeen lähtötilanteessa oli noin 13 000 mg/kg.

Mallinnus tehtiin Helsingin yliopiston ympäristötieteiden laitoksella. Kokeessa pyrittiin selvittämään eri biostimulointikäsittelyjen vaikutusta mikrobitoimintaan sekä öljyhiilivetypitoisuuksien vähenemiseen. Kokeen toivottiin tuottavan tietoa nesteen kierrätyksestä kohdemaassa, käytettävien kemikaalien optimaalisista annostuksista sekä niiden säilymisestä kierrätettävissä liuoksissa.

Koe kesti viisi kuukautta, ja näytteet otettiin kerran kuukaudessa. Näytteiden öljypitoisuudet analysoitiin kaasukromatografisesti ja mikrobimäärä laskettiin 1/5TGY-maljoilta. Sekä maan että poistonesteiden pH-arvoja seurattiin kokeen keston ajan.

Syklodekstriinin havaittiin lisäävän mikrobien määrää, lukuun ottamatta tilanteita, joissa kasvua rajoitti jokin muu tekijä. Kahdessa syklodekstriini-käsittelyssä öljyhiilivetypitoisuudet putosivat neljän kuukauden aikana noin 64 %, kontrollikäsittelyssä 55 % ja kahdessa surfaktanttittomassa ravinnekäsittelyssä noin 38 %. Hapettimena käytetyn vetyperoksidin ei todettu valitulla pitoisuudella lisäävän merkittävästi hajoamistehokkuutta, mutta se ei myöskään näyttänyt rajoittavan mikrobien kasvua. Pelkkä nesteen kierrättäminen oli tehokas tapa pienentää hiilivetypitoisuuksia tiettyyn rajaan asti. Kaikilla testatuilla metodeilla puhdistusprosessi lakkasi etenemästä neljän kuukauden jälkeen mahdollisesti raskaampien fraktioiden huonon saatavuuden takia.

Avainsanat: in situ, bioremediaatio, syklodekstriini, diesel-saastunut maa

Lahti University of Applied Sciences
Faculty of Technology
Degree Programme of Environmental Technology

TALVENMÄKI, HARRI: A pilot scale modeling of an in situ bioremediation process

Bachelor's Thesis in Environmental Biotechnology, 42 pages

Autumn 2010

ABSTRACT

This thesis is about the bioremediation of diesel contaminated soil enhanced with nutrition, a chemical oxidant and cyclodextrin used as a surfactant. A pilot-scale landfarming evaluation was applied using soil from a target area, a depot site under a soil construction procedure, with diesel-levels of approximately 13 000 mg/kg as measured in the beginning of the experiment.

The evaluation model was formed at the University of Helsinki, in the Department of Ecological and Environmental Sciences. The aim was to study the effect of different bio-stimulation methods on microbial activity and the reduction of oil hydrocarbon levels of the soil. The model was hoped to produce information on the circulation of fluids in polluted soil, the optimal dose of the chemicals used and their stability during the process.

The experiment was monitored for five months and the samples taken once a month. Mineral oils were analyzed from the samples with gas chromatography and the microbes were studied from 1/5 TGY plates. The changes in pH were recorded from both the soil and the fluid during the span of the experiment.

Syklodextrin was observed to increase the amount of cell forming units, apart from situations where the growth was inhibited by some other factor. In the two treatments with added cyclodextrin, the oil hydrocarbon levels decreased approximately by 64 %, in the control treatment by 55 %, and in two nutrient treatments without added surfactant, by 38 %. Hydrogen peroxide serving as the chemical oxidant was not documented to have a significant effect on the removal of the hydrocarbons nor did it seem to limit cell-growth. Water flushing appeared to be a sufficient method to reduce the contaminant levels up to a certain point. The efficiency of all the studied methods seemed to wane after four months, possibly because of the low availability of the heavy fractions.

Key words: in situ, bioremediation, cyclodextrin, diesel-contaminated soil

SISÄLLYS

1. JOHDANTO	1
2. ÖLJYSAASTUNEEN MAAN IN SITU -PUHDISTUSMENETELMÄT	3
2.1 Monitoroitu luontainen puhdistuminen (MLP)	3
2.2 Tehostettu biologinen puhdistus ja ilmastus	5
2.3 Maan huuhtelu ja elektrokineettiset menetelmät	6
3. PILOT -KOEESSE KÄYTETTYJEN MENETELMIEN TAUSTAA	8
3.1.1 Surfaktantit ja maan huuhtelu	8
3.1.2 Syklodekstriini	9
3.2 Kemiallinen hapetus	10
3.3 Urea	11
4. PILOT-KOKEEN PYSTYTYS	12
4.1 Koeastioiden rakentaminen	12
4.2 Saastuneen maan lisääminen	13
4.3 Kierrätettävien nesteiden valmistaminen	14
4.3.1 Typpi	15
4.3.2 Fosfori	16
4.3.3 Syklodekstriini	16
4.3.4 Vetyperoksidi	17
5. PILOT- KOKEEN KULKU	18
5.1 Nesteen kierrätys	18
5.2 Näytteenotto	19
5.3 Muutokset alkuperäiseen suunnitelmaan	19
5.4 Kokeen läpivienti	21
6. NÄYTTEIDEN ANALYSOINTI	22
6.1 Mikrobimääritys	22
6.2 Mineraaliöljymääritys	23
6.3 Maan ja suotoveden pH	25
6.4 Typen määrä	25

7. ANALYYSITULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	26
7.1.1 Öljypitoisuudet maasta	26
7.1.2 Öljypitoisuudet nesteessä	28
7.1.3 Öljyhiilivetyjen raskaiden fraktioiden osuus maanäytteissä	29
7.1.4 Dieselin jakautuminen maamaassaan	30
7.2 Orgaanisen aineen osuus	31
7.3 Mikrobit	32
7.4 Typen määrä	33
7.5 Nesteen ja maan pH	35
8. JOHTOPÄÄTÖKSET	37
8.1 Huomioita pilot-kokeesta	37
8.2 Kohdealueen in situ -kunnostus	39
LÄHTEET	40

1. JOHDANTO

Maaperän pilaantuminen on vakava ympäristön pilaantumisen muoto. Vuosina 1989-94 toteutettu ensimmäinen kattava selvitys pilaantumisen laajuudesta Suomessa, SAMASE projekti, kokosi tiedot 10 000 pilaantuneesta maa-alueesta, jonka arvellaan vastaavan alle puolta todellisesta ongelmasta. 2000-luvun alussa Suomessa oli kunnostettu yli 1000 kohdetta, ja vuosittaisten kunnostusprojektien määrä oli 150-200. Kunnostettavista kohteista noin puolet on polttoaineet jakelu-, kuljetus tai varastoalueita. (Penttinen 2001, 8-9.)

Suomessa in situ -käsittely ei ole yleistynyt maanvaihdon ja vastaanottokeskuksen kilpailukykyisten hintojen ja palveluntarjoajien vähäisten vaihtoehtojen takia. Kokeellisen toiminnan aiheuttamat riskit ja pienten aikavälien tulosvastuu on lisännyt haluttomuutta muuttaa toimintamalleja. Vaikka erilaisia biologisia tai fyysikaalis-kemiallisia menetelmiä ja näiden yhdistelmiä on tarjolla ja niiden toimivuudesta on näyttöä muualta maailmasta, paikallisten olosuhteiden merkityksestä ja varsinaisista referenssikohteista ei ole tarvittavaa tietoa. (Romantschuk, Hatakka & Tuhkanen 2007, 1-2.)

Helsingin yliopiston ja Tampereen teknillisen yliopiston Biokunto-projektin tarkoituksena on kehittää pilaantuneen maan in situ -puhdistustekniikkaa maanvaihdon vaihtoehtona tai sen rinnalla. Toivotussa toimintamallissa eri käsittelyvaihtoehtojen tarjoajien yhteistyö mahdollistaa puhdistusprojektin läpiviennin siten, että tarvittavat metodit ovat saatavilla helposti ja aikaisempaa pienemmällä taloudellisella riskillä. Uusien teknisten innovaatioiden myötä konsulttiyritysten tietojen ja palveluiden toivotaan kehittyvän ja kunnostusprojekteihin liittyvien ympäristöriskien pienenevän. (Romantschuk ym. 2007, 3-4.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli mallintaa todelliselle diesel-saastuneella kohteella esitettyä in situ -kunnostusratkaisua pilot-mittakaavassa. Pilot-kokeessa pyrittiin selvittämään eri biostimulointikäsittelyjen vaikutusta koemaan oman mikrobikannan aktiivisuuteen sekä öljyhiilivetypitoisuuksien pienenemiseen. Verattavat menetelmiä oli kolme: maan happipitoisuuden nostaminen vetyperoksidilisäyksen avulla, saasteiden biosaatavuuden parantaminen surfaktantilla sekä kahden mainitun menetelmän yhdistelmä. Biostimulaatiota pyrittiin ylläpitämään myös ravinteita lisäämällä.

Pilot-kokeessa käytetyissä menetelmissä yhdistyvät tavallisimmat öljyyn in situ-puhdistuksen peruseriaatteen: maan oman mikrobikannan hajotustoiminnan tehostaminen, vaaditun ravinnetason takaaminen, ylimääräisen hapen lisääminen sekä maapartikkeleihin sitoutuneen aineksen liikkuvuuden parantaminen. Kokeen toivotaan tuottavan tietoa nesteen syöttämisestä ja kierrättämisestä sekä käytettävien kemikaalien soveltuvuudesta ja optimaalisesta annostuksesta. Pilot-kokeen aikana tehtyjä huomioita pyritään yleistämään kohdemaalla toteutettavan kunnostusprojektin sekä yleisesti in situ -kunnostustoiminnan tasolle.

Kohdema on dieselöljyllä saastunutta maata teollisuusalueeksi merkityltä alueelta. Pilaantumisen ovat aiheuttaneet pitkän aikavälin varikkotoiminta ja mahdolliset säiliövuodot ja ylitäytöt. Maaperää on pilaantunut n. 2 200 m²:n alueelta yhteensä noin 13 500 m³. Korkein mitattu öljypitoisuus on 43 000 mg/kg, ja pilaantuneen maamassan syvyys noin 9 metriä. Kohdema ei ole pohjavesialuetta. Nestemäinen öljy ja öljyinen orsivesi on tarkoitus poistaa asennettujen keräyskaivojen kautta. Saastuneen maamassan kunnostusratkaisuksi on esitetty biologista in situ -käsittelyä ja kemiallisen hapetuksen yhdistelmää; massanvaihtoa pyritään tekemään mahdollisimman vähän. (Salainen.)

2. ÖLJYSAASTUNEEN MAAN IN SITU -PUHDISTUSMENETELMÄT

Öljyllä pilaantuneet maat käsitellään yleensä ex situ –menetelmillä, joissa saastunut maa-aines kaivetaan pois, korvataan puhtaalla maalla ja kuljetetaan jatkokäsittäväksi erillilliselle käsittelyalueelle (Kauppi 2006, 4). In situ –menetelmiä käytetään maankunnostuksessa yleensä tilanteissa, joissa kaivaminen on teknisesti tai taloudellisesti poissuljettu vaihtoehto. Tällaisia tapauksia ovat rakennusten, rakenteiden tai kovien pintamateriaalien alla tai syvällä maaperässä olevat kohteet sekä laajalle ulottuneet vuodot. In situ menetelmien käyttö ei aseta mainittavia esteitä kunnostettavan alueen muulle käytölle. (Penttinen 2001, 14.) Laajempaan in situ – tekniikoiden hyödyntämiseen kannustaa myös säästöt maankuljetuksessa ja jatkokäsittelyssä (Vesa 2008, 3).

2.1 Monitoroitu luontainen puhdistuminen (MLP)

Luontaisella puhdistumisella tarkoitetaan maanperän puhdistamista vaaditulle tasolle sen omien biologisten, kemiallisten ja fysikaalisten prosessien kautta. Menetelmä soveltuu biohajoaville orgaanisille yhdisteille, kuten hiilivedyille. Monitoroinnissa seurataan haitta-aineiden kohtaloa ja poistumista maaperästä, pitoisuuksien pienenemistä ajan suhteen ja prosessin riskitöntä etenemistä. (Tuomi & Vaajasaari 2004, 5.) Menetelmä on tehokas helposti liikkuville aineille, mutta suurimolekyyliset, maapartikkeleihin sitoutuvat yhdisteet eivät osallistu prosesseihin. Luontaista puhdistamista voidaan harkita vain harvoin, sillä aineiden kulkeutumiseen vaikuttaa moni tekijä. Seuranta saattaa olla usein jopa kalliimpaa kuin aktiivinen puhdistus. Kohteen geologisten ja geokemiallisten ominaisuuksien tulee tukea hajoamista, ja pitkään kestävä puhdistusprosessi rajoittaa esimerkiksi alueen pohjanveden käyttöä. Hajoamista ei myöskään aina tapahdu, ja pitkäkestoisessakin prosessissa haitta-aineet voivat kulkeutua eroosion mukana tai huuhtoutumisen ja haihtumisen kautta. (Penttinen 2001, 10.)

MLP on menetelmänä edullinen, ja sitä voidaan käyttää kunnostettavan alueen laajuudesta riippumatta ja muiden puhdistustoimenpiteiden ohessa. Se ei myöskään tuota uutta, käsittelyä vaativaa jätettä eikä siirrä ongelmaa syntypaikaltaan. (Penttinen 2001, 10.) Vaikka MLP:n toimivuus on osoitettu kokeellisesti, sille on ollut vaikea saada viranomaislupaa. Monissa maissa sitä ei pidetä virallisesti hyväksyttynä puhdistusmenetelmänä, ja sen luotettavuus vaatii vielä lisäarvioita. MLP:a on käytetty lähinnä kohteissa, joita ei voida muuten kunnostaa, joko teknisten tai taloudellisten syiden takia. (Tuomi ym. 2004, 6-7.) Vaikka hajoamisen käynnistyttyä prosessin tulisi edetä lämpötilasta riippumatta, matalien keskilämpötilojen takia menetelmä ei ole yleistynyt Suomessa, ja lupia on myönnetty lähinnä kokeellisen toimintaan (Penttinen 2001, 10; Tuomi ym. 2004, 6-7).

MLP:n tärkeimmät biologiset hajoamisreitit perustuvat hapetus-pelkistys – reaktioihin, jotka ovat riippuvaisia maan redox-olosuhteista, kuten happipitoisuudesta ja happamuudesta. Haitta-aine voi olla mikrobien ensisijaista ravintoa, tai se voi hajota muuten mikrobitoiminnan ohessa. Hajoaminen on yleensä nopeinta korkeilla haitta-aine pitoisuuksilla, ja hidastuu prosessin edetessä. Hajoamisen aiheuttava entsymaattinen reaktio on yleensä nopea, mutta muut tekijät, kuten mikrobien määrä, haitta-aineen biosaatavuus, mikrobien ravinteiden ja energian saanti ja kasvua inhibitoivat tekijät, hidastavat prosessia. (Tuomi ym. 2004, 9.)

Polttoainesaastuneet alueet, esimerkiksi bensiinijakelupisteet ovat yleisimpiä MLP sovelluskohteita. Öljyt muodostuvat kooltaan ja rakenteeltaan erilaisista hiilivedyistä, joista osa hajoaa mikrobitoiminnan seurauksena hyvinkin nopeasti. Hajoamista estää hiilivetyjen huono biosaatavuus. Mikrobit tarvitsevat ravintonsa liukoisessa muodossa ja raskaampien fraktioiden sitoutuessa maapartikkeleihin hajoaminen hidastuu pitoisuuden laskiessa ja helpommin hajoavien yhdisteiden loppuessa. (Tuomi ym. 2004, 16-18.)

2. 2 Tehostettu biologinen puhdistus ja ilmastus

Pilaantuneen maaperän luontaista biologista hajostustoimintaa voidaan tehostaa lisäämällä maahan mikro-organismeja ja säätelemällä maan fysikaalis-kemiallisia olosuhteita suotuisaksi hajottajille (Pyy 2009, 10). Biologista hajoamista voivat rajoittaa hapen tai muun elektroniakseptorin puute, väärä ravinnetasapaino, kuivuus, hajottajamikrobien puute, matala lämpötila ja mahdolliset inhibitoivat tekijät (Salainen). Öljyhiilivedyillä maahan syötetään usein happea kemiallisena yhdisteenä, esimerkiksi otsonina tai vetyperoksidina (Goi, Trapido, Kulik 2009, 185-186). Kemiallisen hapetuksen teho perustuu saasteyhdisteiden muuttamiseen biohajoavampaan muotoon (Goi, Trapido, Kulik, Palmroth & Tuhkanen 2006, 37). Se on nopea hapetuskeino ja voi tuottaa tuloksia päivissä tai viikoissa (Goi ym. 2009, 185-186). Kemiallisten hapettimien yhdistäminen biokäsittelyyn voi lisätä kannattavuutta, sillä hapetusreagenssit ovat edullisia (Goi ym. 2006, 37-38).

Öljy hajoaa maaperässä lähinnä aerobisten reaktioiden kautta, jolloin maaperän aerobisille bakteereille otolliset olosuhteet on usein tehtävä lisäämällä saatavilla olevan hapen määrää (Tarasov, Borzenkov, Milekhina, Mysyakina & Belyaev 2004, 465; Kondo 2006, 10). Hajotessaan tarkoitukseen käytetyt otsoni ja vetyperoksidi tuottavat happea mikrobeille, mikä saattaa edesauttaa bioremediaatiota. Käyttö pitää kuitenkin harkita tapauskohtaisesti, sillä lisäykset voivat myös häiritä luontaista hajoamisprosessia. (Goi ym. 2006, 37-38.)

Ilmastuksessa lisätty happi johdetaan pohjaveden yläpuoliseen kerrokseen ilmaa tai happena. Menetelmä ei sovellu pintamaille tai alueille, joissa maan huono läpäisevyys tai epähomogeenisuus tai pohjaveden pinnan korkeus vaikeuttavat ilman liikkumista. Rakennetuilla alueilla kaasun kertymisen riskiä voidaan minimoida keräysjärjestelmien ja suojakaivojen ja -rakennelmien avulla. (Penttinen 2001, 12.)

Bioremediaation kannalta keskeiset makroravinteet ovat typpi ja fosfori (Hyman & Dupont 2001, 209-210). Öljyhiilivedyissä ei ole typpeä eikä fosforia, joten hajoaminen voi estyä myös ravinteiden puutteen takia (Tuomi ym. 2004, 16-18). Vaikka ravinteiden vähäinen saatavuus asettaa rajoja biohajoamiselle, niiden määrällä ei ole suoraa yhteyttä hajoamisaktiivisuuteen: Bioremediaation tehokkuus riippuu hiilivetyjen biohajoavuudesta ja ravinteiden ylenmääräinen annostelu voi jopa häiritä prosessia. (Chaillan, Chaîneau, Point, Saliot & Oudot 2005, 260-261, 264.) Rajoittamattoman remediaation takaamiseksi ravinteita lisätään usein hiili/typpi/fosfori-suhteessa 100:10:1 massojen mukaan laskettuna, suhteen ollessa noin puolet solumassan vastaavasta. Hiilen määrästä puolen oletetaan muodostavan solumassaa, loppuosan toimiessa solujen energianlähteenä. (Hyman ym. 2001, 210.)

2.3 Maan huuhtelu ja elektrokineettiset menetelmät

Kun pilaantuminen jatkuu syvemmälle kuin maan pintakerrokseen, hajotusmenetelmät perustuvat usein veden kierrättämiseen (Pyy 2009, 10). Maan huuhtelussa maahan imeytetään tai injektoidaan vettä ja mahdollisesti haitta-aineen liukoisuutta lisäävää ainetta, eli surfaktanttia (Penttinen 2001, 28-29). Puhdasta vettä voidaan käyttää helposti veteen liukenevien saastumisen aiheuttajien, kuten hydrofiilisten orgaanisten yhdisteiden, kanssa (Tran 2007, 5). Pelkän liuottamisen lisäksi maan huuhtelulla voi olla lisäksi myös orgaanisten yhdisteiden biologista hajoaamista parantava vaikutus. Vaikka kierrätettyä vettä voi käyttää uudestaan, haitta-aineita sisältävän nesteen suodattaminen ja lisäaineiden erottelu sekä syntyvän jätteen jatkokäsittely on kallista. Maaperään voi myös jäädä pesuaineita ja pilaantunut alue saattaa jopa levitä toiminnan seurauksena. Menetelmän käyttökelpoisuus on tapauskohtaista ja riippuu esimerkiksi maaperän läpäisevyydestä, maan rakenteesta ja sen kemiallisista ominaisuuksista. Huuhteluaineen reaktiot maan kanssa voivat heikentää liikkuvuutta. (Penttinen 2001, 28-29.)

Elektrokineettisessä menetelmässä maahan luodaan sähkökenttä elektrodeilla. Orgaanisilla aineilla sähkövirtaa käytetään maapartikkeleihin sitoutuneiden haitta-

aineiden irrottamiseen, jotta ne olisivat paremmin mikrobien hajotettavissa. (Penttinen 2001, 30.) Elektro-osmoosissa positiiviset vetyionit hakeutuvat kohti negatiivisesti varautunutta katodia liikuttaen samalla nesteitä viskoosisten voimien avulla. Ilmiötä voidaan hyödyntää esimerkiksi ravinteiden levittämisessä. (Vesa 2008, 5.)

3. PILOT -KOKEESSA KÄYTETTYJEN MENETELMIEN TAUSTAA

3.1.1 Surfaktantit ja maan huuhtelu

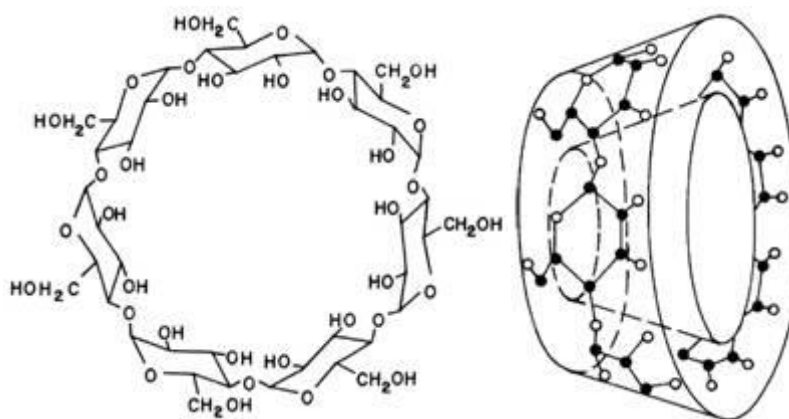
Öljyhiilivetyjen bioremediaation toimivuutta tehokkaana, ekonomisena ja ympäristöystävällisenä tekniikkana rajoittaa niiden hydrofobisten orgaanisten komponenttien heikko biosaatavuus mikro-organismien käyttöön (Martins, Kalil & Costa 2009, 159). Useita remediaatiotekniikoita on tarjolla, joista käytetyin on maan huuhtelu surfaktanteilla tai biosurfaktanteilla (Khalladi, Benhadiles, Bentahar & Moulai-Mostefa 2008, 1179).

Surfaktanttien toimivuus perustuu niiden kykyyn parantaa hiilivetyjen liikkuvuutta ja liukoisuutta aineiden rajapintoihin vaikuttamalla ja pintajännityksen voittamiseksi tehtävän työn määrää merkittävästi vähentämällä (Khalladi ym. 2008, 1179; Martins ym. 2009, 843). Surfaktantit ovat hydrofiilisesta ja hydrofobisesta osasta koostuvia molekyylejä, jotka asettuvat kahden polaarisuudeltaan erilaisen faasin, esim. öljyn ja veden, rajapintaan ja muodostavat mikroemulsioita, joissa muuten liukeamattomat yhdisteet liukenevat toisiinsa (Giovannetti 2009). Biosurfaktantilla tarkoitetaan mikro-organismista eristettyä tai eristämätöntä, surfaktanttin tavoin toimivaa komponenttia, jonka haitallisuus ekosysteemeille on tavallista synteettistä surfaktanttia vähäisempää (Martins ym. 2009, 843).

Surfaktanttien tehokkuudelle on kokeellista näyttöä: Liukoisuuden ja kohteeseen käytetyn surfaktanttipitoisuuden välillä on havaittava yhteys. Liukoisuuden on todettu riippuvan käytetyn surfaktantin määrästä ja laadusta sekä puhdistettavan kontaminaation iästä. (Khalladi ym. 2008, 1179.) Kunnostuskohteissa on hyödynnetty tähän asti pääasiassa synteettisiä surfaktantteja, ja tieto biosurfaktanttien toiminnasta on vähäistä. Biosurfaktanttien käyttöön kannustaa erityisesti niiden vähäinen ympäristökuormitus sekä edullisuus. Ominaisuuksiensa takia niitä voidaan kuitenkin jo todetusti käyttää lisäämään hydrofobisten osien liukoisuutta ja täten helpottamaan maan mikro-organismien hajotustyötä in situ. (Martins ym. 2009, 843-844.)

3.1.2 Syklodekstriini

Syklodekstriinit ovat surfaktantteina käytettyjä tärkkelyksen entsymaattisesta hajoamisesta syntyviä syklisiä oligosakkarideja, joilla on rakenteensa takia kyky muodostaa stabiileja, sulkeutuneita komplekseja useiden yhdisteiden kanssa ja jotka ovat muita surfaktantteja vähemmän alttiita synnyttämään emulsioita (Del Valle 2004, 1033; Molnár, Leitgib, Gruiz, Fenyvesi, Szaniszló, Szejtli & Fava 2005, 160).



KUVIO 1. Syklodekstriinimolekyyli (Loftsson)

Molekyylissä sekundääriset hydroksyylioryhmät C_2 ja C_3 ovat renkaan kehältään pidemässä päädyssä ja primääriset C_6 ryhmät vastakkaisella puolella, mikä aiheuttaa ulkoreunan hydrofiilisyyden (KUVIO 1). Renkaan sisäpuolen C-H-ryhmät ja eetterin kaltaiset happisillat synnyttävät sisäpuolelle hydrofobisen keskuksen, joka voi kaapata vedestä itsensä kokoisia, hydrofobisia molekyyliä ja muodostaa niiden kanssa komplekseja. Syklodekstriinin laaja käyttö perustuu molekyylin ominaisuuksien muuttumiseen sen tullessa osaksi kompleksia. (Del Valle 2004, 1033; Wacker, 4-5.) Erityisesti vieraskomponentin vesiliukoisuuden lisääminen on luonut useita sovellusmahdollisuuksia (Wacker, 7).

Syklodekstriiniä voidaan pitää ekologisena vaihtoehtona sen uusiutuvaan luonnonmateriaaliin perustuvan syntyprosessin ja vähäisten ympäristövaikutusten takia (Wacker, 13). Maan huuhteleminen pelkällä vedellä vähentää todetusti hiilivetytyttöisyyksiä merkittävästi ja pienentää jatkossa mahdollisesti käytettävän surfaktantin määrällistä tarvetta. Lopputuloksen on havaittu olevan tasaisempi hitaalla nestevirtauksella. (Khalladi ym. 2008, 1183.)

3.2 Kemiallinen hapetus

Vetyperoksi on osoittautunut hyväksi kemialliseksi hapettimeksi saastuneen maan remediaatiossa. Vetyperoksidilla hapetus tapahtuu joko suoraan tai vapaiden hydroksyyliiradikaalien kautta, joista jälkimmäinen reaktio tarvitsee katalyytiksi rautaa tai vastaavaa siirtymämetalli-iona Saasteiden hajottamisen lisäksi vetyperoksidin reaktioissa vapautuu happea, joka tehostaa maan aerobista mikrobihajoitusta. In situ -käytössä syntyvät komponentit ovat luonnollisia tai haitattomia, ja toisin kuin muissa tekniikoissa, kontaminantti ei pääse leviämään. Tekniikan haittapuolina ovat pH:n säätelyn tarve ja vapautuva lämpö sekä kaasu. (Goi ym. 2009, 185-186.)

Vetyperoksidi on korkeina pitoisuuksina mikrobeille toksinen ja optimaalinen pitoisuuden on havaittu olevan merkittävästi alle 100 ug/ml. Suuremmilla pitoisuuksilla osa populaatiosta kuolee alkuvaiheessa hidastaen ns. viipyvän kasvun vaihetta korkean konsentraationa vapautuvan hapen ollessa yhtäläillä kasvua rajoittava tekijä. (Tarasov, Borzenkov, Milekhina, Mysyakina & Belyaev 2004, 396.)

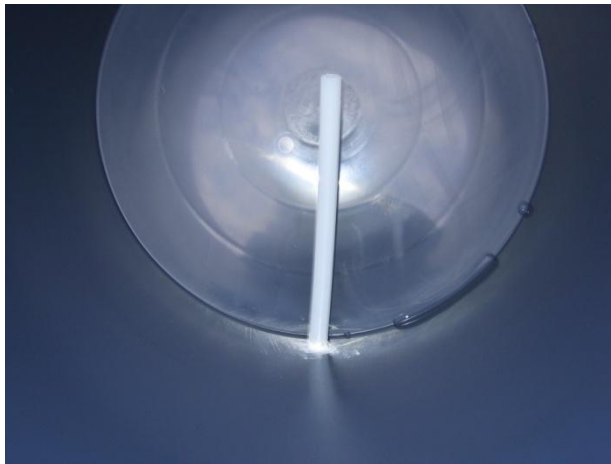
3.3 Urea

Ureaa pidetään periaatteessa bioremediaatioon soveltuvana typenlähteenä. Mikro-organismi ureaasi kuitenkin muuttaa ureaa ammoniakiksi, joka haihtuu eksponentiaalisesti pH:n ylittäessä neutraalin arvon aiheuttaen huomattavaa hävikkiä typen määrässä. Ammoniakki myös inhiboi sienten kasvua, häiriten samalla mahdollisesti koko biohajoamisprosessia. Näistä syistä urea ei ole täysin optimaalinen typen lähde, joskin sen puutteita voidaan kompensoida pienentämällä kertakonsentraatiota ja rajoittamalla kertakonsentraatiota. (Chaillan ym. 2005, 256, 264.)

4. PILOT-KOKEEN PYSTYTYS

4.1 Koeastioiden rakentaminen

Näyteastiat valmistettiin 80 litran muovisaaveista. Nesteenpoistoletkua vasten porattiin ulostuloreikä, siten että kaareutuvan letkun suuaukko oli keskellä saavia n. 10 cm:n korkeudella (KUVIO 2.). Käytetty silikoniletku oli halkaisijaltaan 1,3 cm, ja sitä jatkettiin joustavammalla letkulla, jonka halkaisija oli 1 cm. Kaksiosaisella letkulla ennakoitiin tukkiutumisen riskiä ja kuljetuksen ongelmia. Letkua varten porattu poistoreikä tiivistettiin saavin sisä- ja ulkopuolelta kuumaliimalla ja sikafleksillä ja kahden letkun liitoskohta pelkällä sikafleksillä.



KUVIO 2. Nesteen ulostulo

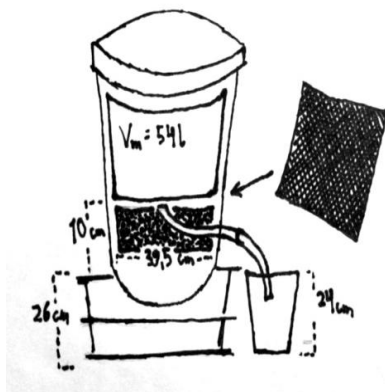
Saavin pohjalle lisättiin noin 14 litraa 8-16 mm raekooltaan olevaa soraa kerrokseksi, joka ylettyi nesteletkun suuaukon korkeuteen (KUVIO 3). Kerroksen ja letkun yläpuolelle asetettiin noin 1 mm²:n silmäkoon muoviverkko eristämään koemaakerros sorakerroksesta. In situ –tilannetta mukaillen neste haluttiin talteen koemaakerroksen alta eikä sen keskeltä.



KUVIO 3. Näyteastian pohjakerros

4.2 Saastuneen maan lisääminen

Kokeessa käytettiin kohdealueelta siirrettyä, diesel-saastunutta maata. Maa seulottiin 1 cm^2 :n seulan läpi, ja näytestaavit täytettiin 9 litraa kerrallaan eri puolilta sekoitettua ja homogenoitua maakasaa, aina 54 litraan asti. Alkunäytteisiin käytetty maa otettiin samassa yhteydessä ja samalla täyttöperiaatteella, mutta pienemmillä tilavuuksilla, ja se säilöttiin kolmeen 10 litran muovιάmpäriin. Täytön jälkeen saavit siirrettiin sisätiloihin ja maamassojen annettiin asettua kolme viikkoa ennen nesteen kierrätyksen aloitusta. Saavit asetettiin kahden lavan päälle, noin 26 cm korkeuteen, ja letku johdettiin noin 24 cm korkeisiin kymmenen litran ämpäreihin kanteen poratun reiän kautta (KUVIOT 4a ja 4b). Tilan lämpötilana pyrittiin pitämään 16°C .



KUVIOT 4a ja 4b: Näytestaavi ja nesteenkeräys

4.3 Kierrätettävien nesteiden valmistaminen

Maan nestepidätyskykyä testattattaessa maa imi itseensä 20,92 litraa vettä, josta poistui lyhyessä ajassa 8,76 litraa. Nestein kierrätys aloitettiin 15 litran tilavuudella, joka vastasi maan pidättämää nestetilavuutta sekä neljänneksen tästä tilavuudesta olevaa, kierrätettävää määrää. Jatkossa nesteen määrä puolitettiin 7,5 litraan. Nesteitä vaihdettaessa kiertävä tilavuus kasvoi joskus yli 7,5 litraan, toisinaan yli kymmeneen litraan, koska vanha neste ei ollut täysin poistunut ennen uuden lisäämistä. Ongelma yritettiin estää tauottamalla kierrätystä aina ennen uuden nesteen vaihtoa. Jos tilavuudet kasvoivat yli 9 litran, ne korjattiin takaisin 7,5 litraan ylimääräistä nestettä poistamalla.

4.3.1 Typpi

Ravinteiden määrä laskettiin hiili-typpi-fosforisuhteesta 100:10:1. Lähtötilanteen maasta teetetyssä ravinneanalyysissä typen määrä oli alle määrittelyrajan, joten se oletettiin nolllaksi. Typpiyhdisteenä käytettiin ureaa $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, josta laskettiin molekyylimassojen suhteesta typen osuudeksi

$$\frac{2 * 14,01 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{[2 * (14,01 + 2 * 1,008) + 12,01 + 16] \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,467$$

Ravinnemäärityksen mukaan hiilen määrä alkunäytteessä oli 6,6 g/kg. Typen määräksi laskettiin

$$1/10 * 6,6 \text{ g/kg} = 0,66 \text{ g}$$

josta maakiloa kohti lasketun urean määräksi saatiin

$$0,467x = 0,66 \text{ g}$$

$$x = 1,41 \text{ g/kg}$$

typen määrä laskettiin maamassaa kohti. Maan tiheydeksi alkutilanteessa mitattiin 1,52 kg/l josta laskettiin tarvittavan typen määräksi

$$1,52 \text{ kg/L} * 54 \text{ L} * 1,41 \text{ g/kg} = \mathbf{116,15 \text{ g (ureaa)}}$$

4.3.2 Fosfori

Fosfaattipuskureiksi valittiin yleisesti käytetyt dikaliumvetyfosfaatti (K_2HPO_4) ja natriumdivetyfosfaatti (NaH_2PO_4). Alkuperäisenä annoksena käytettiin pitoisuutta 5mM. Puskurin tarkoitus oli tasapainottaa pH:ta ja toimia fosforinlähteenä. Fosforia sai kierrätettävässä nesteessä olla yli teoreettisen optimiannoksen, ja määrää uudelleenarvioitiin puskuroinnin tarpeen mukaan.

alkuperäisiksi määriksi punnittiin kaavasta

$$m=Mn=McV$$

$$5\text{mM } K_2HPO_4 = (2 \cdot 39,10 + 1,008 \cdot 30,97 + 4 \cdot 16,00) \text{ g/mol} \cdot 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L} \cdot 15 \text{ L} = \mathbf{13,06 \text{ g}}$$

Natriumdivetyfosfaattina käytettiin kidevedellistä yhdistettä, jonka moolimassa on 137,99 g/mol, jolloin massaksi saatiin

$$5\text{mM } NaH_2PO_4 = 137,99 \text{ g/mol} \cdot 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L} \cdot 15 \text{ L} = \mathbf{10,35 \text{ g}}$$

4.3.3 Syklodekstriini

1%:n syklodekstriiniliuoksen valmistamiseen käytettiin 50%:sta liuosta, jolloin

$$\frac{V_{(CD)}}{V_{(50\%)}} = 0,5 \rightarrow V_{(CD)} = 0,5 V_{(50\%)}$$

kierrätettävään 1% :seen nesteeseen tarvittava 50%:n liuoksen määrä laskettiin verrannosta

$$\frac{V_{(CD)}}{V_{(1\%)}} = \frac{0,5 V_{(50\%)}}{15 \text{ l}} = 0,01$$

$$\rightarrow V_{50\%} = \mathbf{0,3 \text{ litraa } 50\%:sta \text{ syklodekstriiniliuosta}}$$

4.3.4 Vetyperoksidi

0,5 % liuoksen (5g/L) valmistamiseen käytettiin 35% liuosta, jonka tiheys on $1L=1,135 \text{ kg}$. Puhtaan vetyperoksidin tarvittavaksi massaksi laskettiin tiheydestä

$$0,35x=5\text{g}$$

$$m=5\text{g}/0,35= 14,286 \text{ g}$$

tilavuudeksi saatiin verrannosta

$$\frac{1\text{ml}}{1,135 \text{ g}} = \frac{V}{14,286 \text{ g}}$$

-> $V=12,587 \text{ ml}$ 35%:sta liuosta nestelitraa kohti.

Lisätty vetyperoksimäärä laskettiin kierrätettävien nesteiden tilavuuksien suhteen verrannosta

$$\frac{1000\text{ml}}{V} = \frac{12,587 \text{ ml}}{x}$$

alussa tilavuudella 15 litraa vetyperoksidin määräksi saatiin

$$\frac{1000 \text{ ml}}{15000 \text{ ml}} = \frac{12,587 \text{ ml}}{x}$$

-> $x= 188,8 \text{ ml } 35 \% \text{ H}_2\text{O}_2\text{-liuosta}$

5. PILOT- KOKEEN KULKU

5.1 Nesteen kierrätys

Kierrätettävä neste sekoitettiin 35 litran muovisaavissa, johon oli kaiverrettu asteikko halutuille 15 ja 7,5 litran tilavuuksille. Nestemäiset lisäykset, syklodekstriini ja vetyperoksidi, kaadettiin saavin pohjalle ja laimennettiin haluttuun tilavuuteen, jonka jälkeen kiteiset yhdisteet sekoitettiin nesteeseen. Neste kaadettiin koe-saaveihin kastelukannulla (KUVIO 5). Lisäyksen aikana poistoputket olivat suljettuina.



KUVIO 5. Nesteen lisääminen

5.2 Näytteenotto

Näytteenottoon käytettiin halkaisijaltaan 3 cm:stä, 34,5 cm pitkää metallikairaa. Kaira painettiin maamassan läpi aina tiiviimpään pohjakerrokseen saakka ja sen tyvestä poistettiin 2 cm pintamaata ennen näytteenastiaan siirtämistä (KUVIOT 6a ja 6b). Näytteenä käytettiin kahden, eri puolilta saavia suoritettua kairauksen kookoomaa, jonka massa oli arviolta 0,5 kg. Näyte sekoitettiin ja siitä siirrettiin noin 100 g minigrip pussiin, jota säilytettiin pakkasessa. Alkuperäinen näyte säilöttiin 6 °C:ssa kylmiössä.



KUVIOT 6a ja 6b. Näytteenotto koemaasta

5.3 Muutokset alkuperäiseen suunnitelmaan

TAULUKKO1. Lähtötilanteessa 21. lokakuuta 2009 käytetyt liuokset:

	1: ravinne	2: CD+ravinne	3: H2O2+ravinne	4: CD+H2O2+ravinne	5: -
urea	116,15 g	116,15 g	116,15 g	116,15 g	-
K ₂ HPO ₄	13,06 g	13,06 g	13,06 g	13,06 g	-
NaH ₂ PO ₄	10,35 g	10,35 g	10,35 g	10,35 g	-
50% CD	-	0,3 L	-	0,3 L	-
35% H2O2	-	-	188,8 ml	188,8 ml	-
vesi	15 L	14,7 L	14,81 L	14,51 L	15 L

Alkuperäiseen nesteekierrätysuunnitelmaan (TAULUKKO 1.) tehtiin mainittuja korjauksia seuraavina ajankohtina:

0 kk 1 vk, yhden nesteekierrätyksen jälkeen:

Nesteen tilavuus puolitettiin 7,5 litraan, jolloin konsentraatioiden pysyessä samana myös lisättyjen yhdisteiden massat puolittuivat. Urean määrä pysyi ennallaan sillä se laskettiin maamassan suhteen.

0kk 2vk:

Urean lisääminen lopetettiin pH:n nopean nousun seurauksena, puskurin kaksinkertaistettiin samasta syystä.

2kk 3vk

Palattiin normaaliin puskuriin, ureaa lisättiin kymmenesosa alkuperäisestä annoksesta hiili-typin suhteen 100:1 mukaan.

5.4 Kokeen läpivienti

TAULUKKO 2: Kokeen aikajana

	-22d	maanäytteet 0kk, koesaavien täyttö
	-21d	saavien siirto koealueelle
0kk	0d	nesteen kierrätyksen aloitus, 15 litraa uutta nestettä
	6d	vesinäytteet 0kk, 7,5 L uutta nestettä alkuperäisillä konsentraatioilla, paitsi urea maamassaa kohti
	9d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	14d	7,5 litraa uutta nestettä, kaksinkertainen puskuri, ei ureaa
	16d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	20d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	22d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
1kk	26d	maanäytteet 1kk
	28d	7,5 litraa uutta nestettä, kaksinkertainen puskuri, ei ureaa
	30d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	35d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	41d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	44d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	47d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	50d	7,5 litraa uutta nestettä, kaksinkertainen puskuri, ei ureaa
2kk	54d	maanäytteet 2kk, nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	57d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	62d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	67d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	71d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	76d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	82d	7,5 L uutta nestettä, normaali puskuri, ureaa 1/10 alkuperäisestä annoksesta (C:N= 100:1)
	86d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
3kk	89d	maanäytteet 3kk
	92d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	97d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	104d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	110d	7,5 L uutta nestettä, normaali puskuri, ureaa 1/10 alkuperäisestä annoksesta (C:N= 100:1)
	113d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
4kk	117d	maanäytteet 4kk
	121d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	127d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	133d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	139d	nesteen kierrätys, vetyperoksidin lisäys
	148d	vesinäytteet 4kk, 7,5 L uutta nestettä, tavallinen puskuri, ureaa 1/10 alkuperäisestä annoksesta (C:N = 100: 1)
5kk	152d	maanäytteet 5kk, ammonium- ja nitraattimääritys nesteestä

6. NÄYTTEIDEN ANALYSOINTI

6.1 Mikrobimääritys

Mikrobeja kasvatettiin 1/5 TGY maljoilla. Maata punnittiin noin 0,5 tai 1 g 4,5 tai 9 ml:n tilavuuteen 0,9% NaCl-liuosta, riippuen käytettävien putkien koosta. Alkutilanteessa maljat tehtiin laimennoksille $10^{-2} - 10^{-6}$. Maljoja inkuboitiin 16 °C:ssa tilassa, ja maljat laskettiin kolmen vuorokauden ajan. Tämän jälkeen ne siirrettiin viikonlopuksi kylmiöön, minkä jälkeen inkuboimista jatkettiin normaalissa lämpötilassa. Kaksi vuorokautta 6 °C lämpötilassa ei kuitenkaan vastannut oletettua nollan vuorokauden kasvua, ja suuressa osassa maljoja mikrobit eivät olleet enää laskettavissa kylmiöstä otettaessa. Tästä syystä päädyttiin käyttämään kolmannen vuorokauden tuloksia.

Jatkossa maljat valmistettiin laimennuksille $10^{-4} - 10^{-6}$. Joulukuun 2009 näytteillä kasvatustilan lämpötila oli ensimmäisen vuorokauden ajan 6 °C, jolloin kasvun ei voitu olevan normaalia. Maljoja kasvatettiin tämän jälkeen 2 vuorokautta normaalissa lämpötilassa, jonka jälkeen ne siirrettiin viikonlopuksi kylmiöön. Pesäkkeiden määrä kylmiöstä otettaessa vastasi kontrolliryhmän maljojen perusteella suuruusluokaltaan normaalia kolmen vuorokauden kasvua, ja tämän tuloksen oletettiin olevan vertailukelpoinen kaikilla maljoilla.

Maaliskuussa 2010 viimeisellä näytteenottokerralla siirryttiin välille $10^{-3} - 10^{-5}$ mikrobien vähäisyyden takia.

6.2 Mineraaliöljymääritys

Öljypitoisuudet maasta ja vedestä mitattiin liekki-ionisaatiodekteriorisella GC-FID-kaasukromatografilla. Uuttoliuoksena käytettiin n-heksaania, johon lisättiin n-nonaania ja n-tetrakontaania integrointistandardiksi. Kalibroimiseen käytettiin lisääaineettomien diesel- ja voiteluöljyjen perusliuoksista pitoisuuksille 0, 20, 100, 500, 1000, 1300, 1700 ja 2100 µg/ml valmistettuja kalibrointistandardilaimennuksia. Mikäli yksittäinen standardi heikensi kalibrointisuoran regressiokertoimen tarkkuuta ratkaisevasti, se hylättiin. Tulokset laskettiin hiilivedyille väliltä C10-C40, ja ne jaettiin kevyisiin ja raskaisiin fraktioihin tehdasvalmisteisella C21-markkerilla.

Maanäytteiden pitoisuudet mitattiin ISO 16703 (2004) standardin mukaisesti. Maata punnittiin 2 g 12 ml:n kimax-putkeen, ja siihen lisättiin 4 ml asetonია ja 2 ml uuttoliuosta. Putkia ravisteltiin 60 min 300 rpm:n kierrosnopeudella, minkä jälkeen niitä sentrifugoitiin 10 min 2000 rpm:n kierrosnopeudella. Tämän jälkeen nestefaasi siirrettiin toiseen kimax-putkeen ja se pestiin 2,5 ml:lla mQ puhdistettua vettä. Putkia ravisteltiin 5 min ja sentrifugoitiin 10 min samoilla kierrosnopeuksilla. Alempi vesifaasi poistettiin ja pesu toistettiin. Liuosfaasi kuivattiin vedetömällä Na₂SO₄:lla ja siirrettiin pakkaseen kimax-putkissa. Seuraavana päivänä näytteet kolonnipuhdistettiin pasteur-pipetissä, johon oli punnattu 0,5 g kuivattua florisiliä. Näytteet ajettiin laimennettuna 20:1.

Mineraaliöljyjen määrittämiseksi suotovedestä luotiin menetelmä, jonka tarkkuutta arvioitiin 1 500 µg/ml pitoisella speakatulla näytteellä. Vesinäytteenä käytettiin 100ml:n kokoomaa kolmen rinnakkaisen näytesaavin poistonesteistä, joista jokaista mitattiin näytteeseen 33,3 ml. Neste mitattiin mittalasilla 200 tai 250 ml:n mittapulloon ja siihen lisättiin mittapipetillä 10 ml uuttoliuosta. Näytteitä ravisteltiin 60 min 200 rpm kierrosnopeudella. Pulloon muodostui kolme faasia, liuotinaasi, vesifaasi ja keskelle nesteet erottava emulsiofaasi. Pipetoimisen helpottamiseksi pulloihin lisättiin mQ vettä. Kaksi ylimmäistä faasia siirrettiin pyrex-putkeen ja niitä sentrifugoitiin 10 minuuttia kierrosnopeudella 2000 rpm. Putket pakastettiin vuorokaudeksi ja nestemäinen faasi kolonnipuhdistettiin. Puhdistuksessa lasiseen pastor-pipettiin punnittiin heksaanipestyn pumpulin päälle 0,5g kuivattua florisiilia ja 1g vedetöntä Na₂SO₄:a. Puhdistettu liuos kerättiin 10 ml:n mittapulloihin ja sen määrä täydennettiin tarkasti 10 ml:aan lisäämällä uutta uuttoliuosta. Näytteet ajettiin laimentamattomina.

pitoisuus laskettiin kaavasta $C_v = [(C - C_o) * V * LK] / M$

jossa

C_v = vesinäytteen öljypitoisuus (µg/ml)

C = standardisuorasta laskettu öljyn pitoisuus vesinäytteelle (µg/ml)

C_o = standardisuorasta laskettu öljyn pitoisuus nollanäytteelle (µg/ml)

V = vesinäytteen uuttoliuoksen tilavuus (10ml)

LK = laimennuskerroin (1)

M = analyysiin otetun vesinäytteen tilavuus (100ml)

6.3 Maan ja suotoveden pH

Suotovesien pH määritettiin IQ150- kenttämittarilla. Mittari kalibroitiin ennen käyttöä ja anturi huuhdottiin mQ-vedellä mittausten välissä. Koemaalla lasipulloon punnittiin 10 g maata ja mitattiin 50 ml 0,1 M CaCl_2 -liuosta. Pulloja ravisteltiin 30 min kierrosnopeudella 300 rpm ja annettiin laskeutua yli 21 h ennen mittausta SCHOTT CG 842B pH-mittarilla.

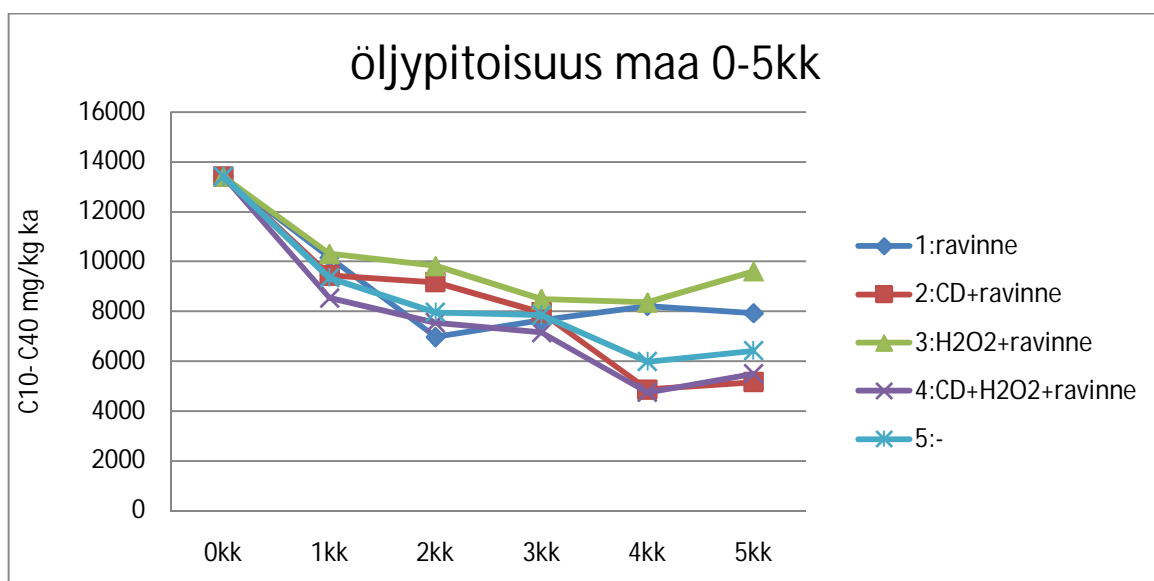
6.4 Typen määrä

Typen määrää arvioitiin nesteestä nitraatti- ja ammonium-ioneina ja niiden summana Merck KgaA:n Merckoquant Nitrate Test NO_3^- ja Ammonium test NH_4^+ -liuskoilla.

7. ANALYYSITULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

7.1.1 Öljypitoisuudet maasta

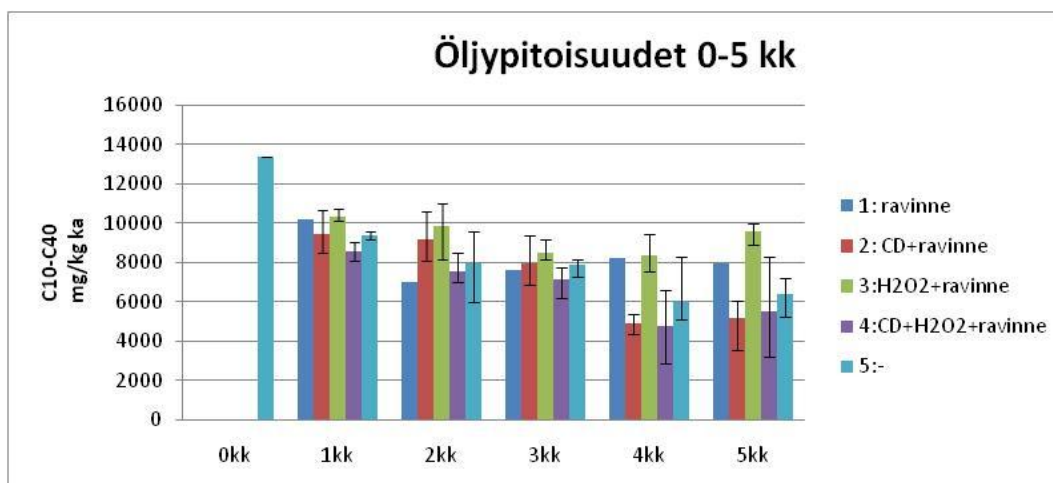
Diesel-pitoisuuden lähtötilanteena pidettiin kaikilla käsittelyillä alkuperäisestä koemaasta otettujen näyteämpärien tulosten keskiarvoa. Yksi kolmesta näytteestä kontaminoitui, ja se hylättiin. Alkuperäisen lopetusajankohdan (4kk) maanäytteistä uutettiin kahdet ajettavat näytteet tulosten tarkentamiseksi.



KUVIO 7a. Öljypitoisuudet, käsittelyjen keskiarvot 0-5kk

TAULUKKO 3. Pitoisuuksien keskiarvojen luottamusvälit hetkellä 4kk

4kk:n pitoisuuksien keskiarvojen luottamusvälit tarkkuudella 95%	
1: ravinne	[6642; 9807] (mg/kg kuiva-ainetta)
2:CD+ravinne	[3366; 6369]
3: H2O2+ravinne	[7872; 8864]
4:CD+H2O2+ravinne	[2980; 6530]
5:-	[4788;7180]



KUVIO 7b. Mineraaliöljypitoisuudet 0-5kk

Ensimmäisen kuukauden tuloksissa poistuman voitiin olettaa olevan nesteenkierätyksen aikaansaamaa, sillä huomattavia eroja viiden eri käsittelyn välillä ei syntynyt (KUVIOT 7a ja 7b). Syklodekstriini-vetyperoksidi-ravinne –käsittelyssä pitoisuuksien lasku oli kuitenkin keskimääräisesti suurinta. Eri ryhmien väliset hajonnot eivät kuitenkaan eronneet suuruusluokaltaan merkittävästi ryhmien sisäisistä, joten varsinaista trendiä oli vaikea olettaa.

Kolmannen kuukauden tuloksissa erot olivat yhä pieniä ja poistuman arvioitiin johtuvan lähinnä nesteenkierätyksestä, mikä tuki lähdeaineiston hypoteeseja vesipesun kannattavuudesta. Neljännen kuukauden tuloksissa surfaktanttikäsittelyt erottuivat kuitenkin muita tehokkaampina. Toiset uuttotulokset vahvistivat ensimmäisen ajon eroja, joskin syklodekstriiniryhmien ja kontrollikäsittelyn tulokset olivat lähempänä toisiaan. Kahden ajon keksiarvoissa käsittelyissä erottui kuitenkin entistä selvemmin kolme ryhmää pitoisuusjärjestyksessä pienimmästä suurimpaan: syklodekstriinikäsittelyt, kontrolli ja surfaktanttittomat ravinnekäsittelyt.

Surfaktanttikäsittelyissä syklodekstriinin epäiltiin parantavan ajettavien näytteiden uuttotehokkuutta, jolloin tulokset eivät ole välttämättä täysin vertailukelpoisia käytetyllä standardimenetelmällä. Mahdollisen virheen suuruutta ei voida arvioida, mutta on mahdollista, että pitoisuuserot surfaktanttikäsittelyjen ja muiden käsittelyjen välillä ovat todellisuudessa suurempia, kuin mitä mittaustulokset antavat ymmärtää.

Vetyperoksidilisäyksen ei todettu vaikuttavan merkittävästi diesel-pitoisuuksiin. Mikäli näin olisi ollut, positiivisen vaikutuksen olisi voitu katsoa johtuneen pelkästään vapautuneen lisähapen merkityksestä mikrobiaktiivisuuden kasvuun, sillä pH ylitti koko koeajalla raudan katalysoiman fenton-reaktion ylläpitämiseen vaadittavan alueen 3-6.

Koetta jatkettiin kuukaudella, jotta eri käsittelyjen pitoisuuksien välinen suhde tai niiden erojen kärjistyminen voitiin todeta myös toisessa mittauspisteessä. Viiden kuukauden tulos vahvisti neljännen kuukauden tuloksia sikäli, että surfaktanttikäsittelyissä pitoisuuksien keskiarvo jäi selvästi kontrollikäsittelyn alapuolelle, ja surfaktanttitomien ravinnekäsittelyjen tasot olivat vastaavasti huomattavasti muita korkeammat. Muuten pitoisuuksien arvot näyttivät nousseen systemaattisesti edellisestä kuukaudesta, mahdollisesti standardeista tai laitteen huoltotoimista johtuen.

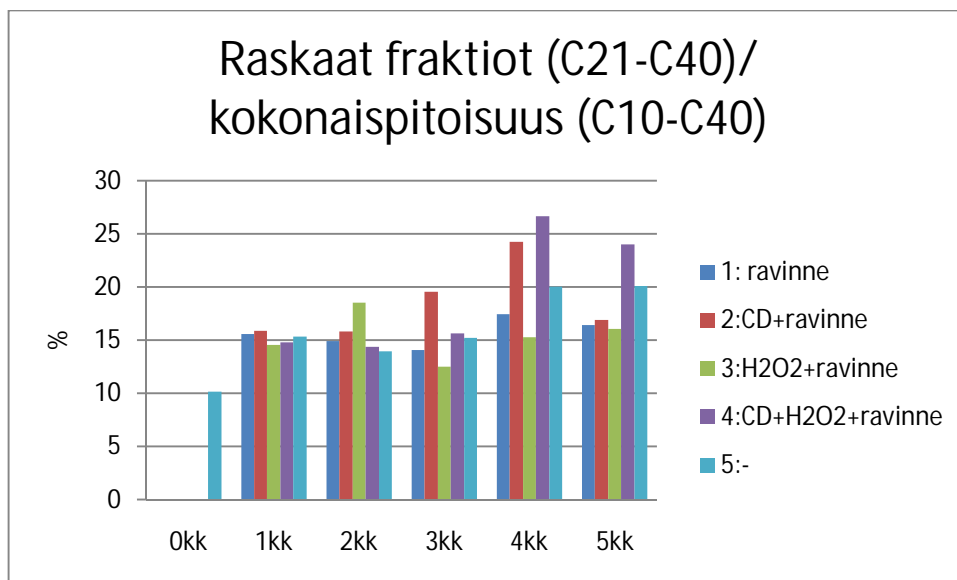
7.1.2 Öljypitoisuudet nesteessä

TAULUKKO 4. Öljypitoisuudet läpikulkeutuneissa nesteissä

nesteet öljypitoisuus (µg/ml)	0kk kok	4kk kok
1. ravinne	4,4	10,7
2. CD+ravinne	29,1	57,0
3.H ₂ O ₂ +ravinne	16,0	14,6
4.CD+H ₂ O ₂ +ravinne	45,1	55,6
5. -	5,4	2,8

Lähtötilanteen ja 4. kuukauden läpikulkeutuneiden nesteitten kokoomanäytteistä tehdyt uutot näyttivät että poistuma nesteiden mukana oli tuloksien kannalta vähäistä. Syklodekstriini liuotti mineraaliöljyä maasta pelkkää vettä tehokkaammin molemmissa vaiheissa, eli öljyhiilivetyjen hajoamisen osuus poistumasta oli suhteessa pienempi. Kahden näytekerän tulokset eivät ole keskenään vertailukelpoisia, sillä lähtötilanteen näyteneste kulkeutui maan läpi vain kerran, neljännen kuukauden kuusi kertaa

7.1.3 Öljyhiilivetyjen raskaiden fraktioiden osuus maanäytteissä



KUVIO 8. Dieselin C²¹-markkeria raskaampien fraktioiden osuus kokonaispitoisuudesta

Mainitulla aikavälillä voitiin todeta että surfaktanttikäsittelyjen teho hiipui neljän kuukauden jälkeen ja muiden käsittelyjen jo kuukautta aikaisemmin. Puhdistustehon heikkenemisen oletettiin johtuvan raskaampien fraktioiden heikosta saatavuudesta. C₂₁-markkerin yläpuolelle jäävien fraktioiden osuus kokonaispitoisuuksista näytti kasvavan kokeen edetessä (KUVIO 8). 4 kk:n tuloksissa eri käsittelyjen pitoisuuksien taso oli kääntäen verrannollinen raskaiden fraktioiden osuuden kanssa. Surfactanttikäsittely poisti kevyitä fraktioita muita käsittelyjä tehokkaammin, mutta vaikutus heikkeni raskaisiin siirryttäessä.

7.1.4 Dieselin jakautuminen maamaassaan

Rinnakkaisten näytesaavien tulosten hajonnat olivat kaikilla käsittelyillä koko kokeen ajalla suuria. Keskihajonnan suuruus johtui mahdollisesti dieselin epätasaisesta jakautumisesta maa-ainekseen ja täten yksittäisen maanäytteen heikosta edustavuudesta. Maasta oli silmämääräisesti erotettavissa kooltaan vaihtelevia öljyn ja maan muodostamia taikinamaisia kertymiä eli ns. hot spotteja, joista suurimmat siirrettiin näytteenottotilanteessa sivuun (KUVIO 9). Samankaltaisia rakenteita oli havaittavissa myös alkuperäisessä, homogenisoimattomassa koemaassa. Kertymien syntyminen oli oletettavasti nesteen kierrätyksen aikaansaamaa.



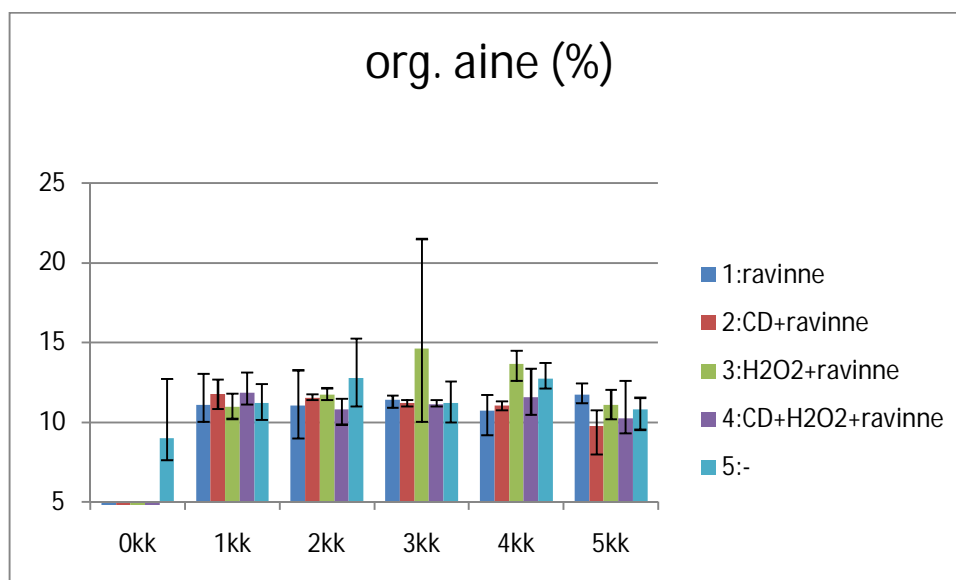
KUVIO 9. Hot spot

Ajettavien näytteiden määrän kaksinkertaistaminen ei vaikuttanut kaikissa tapauksissa merkittävästi keskihajonnan suuruuteen: Kahden samasta, noin 100 g:n massaisesta maanäytteestä uutetun ajonäytteen pitoisuuksien keskihajonta oli suurimmillaan jopa 26 % niiden keskiarvosta.

7.2 Orgaanisen aineen osuus

TAULUKKO 5. Orgaanisen aineen osuus

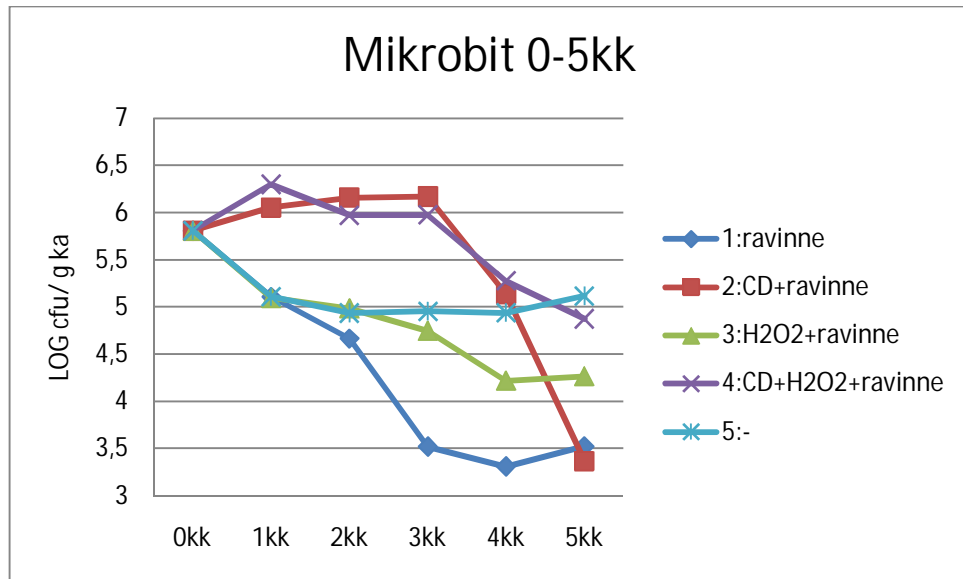
Orgaanisen aineen osuuden (%) luottamusvälit tarkkuudella 95%		
0kk (käsittelemätön maa)	>5,9	<12,1
4kk		
1: ravinne	>8,1	<13,4
2:CD+ravinne	>10,5	<11,6
3:H2O2+ravinne	>11,8	<15,6
4:CD+H2O2+ravinne	>8,5	<14,6
5:-	>11	<14,4



KUVIO 10. Orgaaninen aine (%)

Maanäytteiden epähomogeenisuuden takia orgaanisen aineen prosentuaalinen osuuden muutokset ryhmien välillä tai kokeen etenemisen suhteen jäivät virherajojen sisälle (KUVIO 10).

7.3 Mikrobit



KUVIO 11. Colony forming units/ g kuiva-ainetta 0-5 kk

Biosurfaktanttina käytetyn syklodekstriinin vaikutus mikrobiaktiivisuuteen oli nähtävillä jo ensimmäisen kuukauden tuloksissa (KUVIO 11). Molemmissa CD-käsittelyissä mikrobien määrä kasvoi alkuperäisestä. Käytetyllä pitoisuudella vetyperoksidin ei havaittu häiritsevän kasvua merkittävästi. Ravinnekäsittelyssä mikrobien määrä romahti odottamattomasti ensimmäisen kuukauden jälkeen, ja koejaksolla kaikissa ravinnelisyksiä sisältävissä käsittelyissä mikrobien määrä kääntyi laskuun viimeistään kolmannen kuukauden jälkeen.

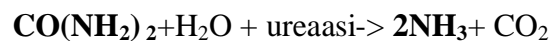
7.4 Typen määrä

Mikrobien määrän väheneminen epäiltiin alun perin olevan yhteydessä ureaannostelun tauottamiseen ja annoskoon pienentämiseen. pH:n nopea nousu kokeen alussa ei vaikuttanut mikrobien määrään kaikissa käsittelyssä, kun taas pitkän palautumisen aikana määrä näytti seuraavan typen vähenemistä indikoivaa pH-käyrää. Mikrobien oletettiin tottuneen suuriin typpipitoisuuksiin, ja pitoisuuksien tuntuvan alentamisen vaikuttavan niiden määrään mahdollisesti enemmän kuin minkään muun tekijän. Kierrätettävän nesteen typpimäärän arvioimiseksi neljännen kauden poistonesteestä määriteltiin liuskoilla likimääräiset ammonium- ja nitraatipitoisuudet.

TAULUKKO 6. NO_3^- -ja NH_3 -Liuskojen tulokset:

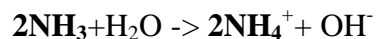
	c (NO_3^-)	c (NH_4^+)
1: ravinne	10 000mg/l	100-200 mg/l
2: CD+ravinne	5 000mg/l	60-100 mg/l
3: H_2O_2 +ravinne	10 000mg/l	100-200 mg/l
4:CD+ H_2O_2 +ravinne	2 500mg/l	100 mg/l
5:-	0 mg/l	0 mg/l

Ammonifikaatiossa urea hajoo ureaasin vaikutuksesta ammoniakiksi.



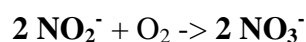
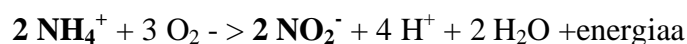
(Overdahl, Rehm & Meredith, 1991)

ammoniakki reagoi veden kanssa ja syntyy ammonium- ja hydroksyyli-ioneita.



(Oxford & Oxford)

nitrifikaatiossa ammonium muuttuu bakteriaalisen toiminnan kautta nitriitiksi ja eteenpäin nitraatiksi.



(Oxford ym.)

Urean ollessa ainoa typen lähde, sen määrä voidaan arvioida karkeasti yhdistettyjen reaktioyhtälöiden kertoimien perusteella ammonium- ja nitraatti-ionien aine-määrien puolikkaaksi summaksi. Yhtälöistä saadaan (nestettä arviolta 7,5 litraa)

$$n[\text{CO}(\text{NH}_2)_2] = 1/2n[\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-]$$

$$n[\text{NO}_3^-] = (7,5 * 10 \text{ g} / (14,01 + 3 * 16,00) \text{ g/mol}) = 1,209 \text{ mol}$$

$$n[\text{NH}_4^+] = (7,5 * 0,1 \text{ g} / (14,01 + 4 * 1,008) \text{ g/mol}) = 0,042 \text{ mol}$$

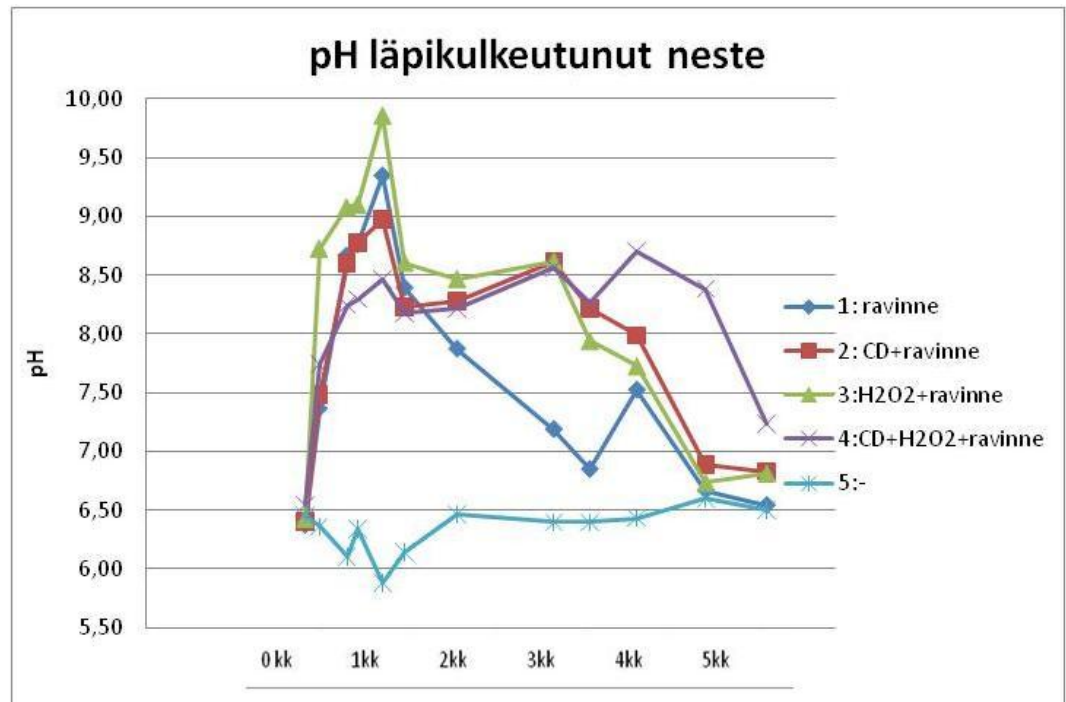
$$m[\text{CO}(\text{NH}_2)_2] = n[\text{CO}(\text{NH}_2)_2] * M[\text{CO}(\text{NH}_2)_2] =$$

$$1/2 * (1,209 + 0,042) \text{ mol} * (12,01 + 16,00 + 2 * 14,01 + 4 * 1,008) \text{ g/mol} =$$

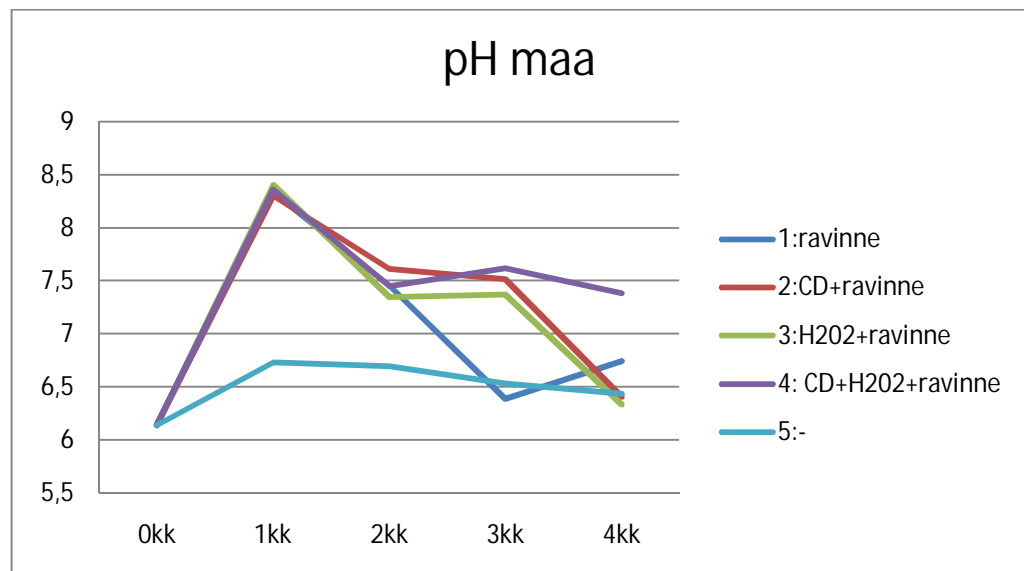
$$\underline{\underline{37,6 \text{ g}}}$$

Liuskosten tulosten perusteella typen määrä ei voitu pitää bakteeritoimintaa rajoittavana tekijänä. Nesteessä oli tyypeä monenkertaisesti enemmän kuin mitä siihen oli viimeisessä lisäyksessä laitettu. Hapen puutetta pidettiin pullonkaulailmiön vaihtoehtoisena selityksenä.

7.5 Nesteen ja maan pH



KUVIO 12. Nesteen pH 0-4 kk



KUVIO 13. Maan pH

Urea osoittautui kokeen alkuvaiheessa tarkoitukseen epävarmaksi typenlähteeksi, sillä se luovutti typen nopeasti nostaen nesteen pH-arvot 6,5:sta jopa lähelle kymmentä (KUVIO 12). pH-nousun voitiin olettaa johtuvan pelkästä ammonium-ionista, sillä se tapahtui kaikissa käsittelyissä kontrollia lukuunottamatta. Peroksidikäsittelyissä poistoveden peroksidipitoisuudet olivat alle liuskojen määrittelyrajan, kun taas nopean nousun alkuvaiheessa liuskoilla mitattu ammonium-pitoisuus nesteessä oli jopa 3000-6000 mg/kg.

Maasta mitatut pH-lukemat seurasivat muutoksia nesteen pH:ssa (KUVIO 13). Alun nopea nousu näkyi lievempänä, mutta selvästi erottuvana myös maassa. Ravinnekäsittelyn, poikkeuksellinen syvä, urealisäyksiin reagoimaton pH:n lasku tuli ilmi molemmista mittauksista.

8. JOHTOPÄÄTÖKSET

8.1 Huomioita pilot-kokeesta

Käytetyllä analyysimetodilla nesteen kierrätys näytti vähentävän öljypitoisuuksia huomattavasti. Kolmannen kuukauden tulosten pohjalta pelkän veden kierrättäminen maamassassa on kannattavin puhdistusmenetelmä, mutta neljännen kuukauden kohdalla syklodekstriinin vaikutus puhdistustehokkuuteen oli havaittavissa, joskin näytemaan epähomogeenisuuden takia ero jäi 95 %:n todennäköisyyden luottamusvälin rajoihin. Surfaktantin käyttö kasvatti kuitenkin mikrobien määrän jopa yli kymmenkertaiselle tasolle kontrollikäsittelyyn verrattuna.

Vetyperoksidin ei voitu katsoa vaikuttaneen puhdistustehokkuuteen. Fenton-reaktio ei käynnistynyt pH arvojen ollessa liian korkealla. Peroksidin hajoamisesta vapautuneen hapen määrä ei myöskään ollut riittävä kiihdyttämään aerobisia reaktioita. Hapen puute maamassassa oli kokeen loppupuolella mahdollisesti suurin mikrobikasvua rajoittava tekijä.

Kaikilla käsittelyillä puhdistustehokkuus näytti pysähtyvän neljännen kuukauden jälkeen. Tämä johtui oletettavasti dieselin raskaampien fraktioiden huonosta saatavuudesta. Prosessin käynnistämiseksi uudelleen ehdotettiin syklodekstriin vaihtamista toiseen surfaktanttiin. Elektoniakseptoriksi vetyperoksidin tilalle esitettiin rautasulfaattia. Haitta-aineen saatavuutta olisi mahdollista tehostaa myös elektrokineettisin menetelmin.

Näytteiden huono edustavuus ja dieselin epätasainen jakautuminen ovat ongelmia, joiden merkitys kasvaa maamassan moninkertaistuessa. Jo ohuella maakerroksella ja homogeenoidulla maamassalla analyysitulosten ja niistä tehtyjen johtopäätösten luotettavuus oli vaihtelevaa ja maan todellisia mineraaliöljypitoisuuksia on haasteellista mitata. Käsittelemättömän maamassan suurimmat diesel-kertymät olivat halkaisijaltaan jopa kymmeniä senttimetrejä. Nesteekierrätyksen voitiin katsoa johtaneen kertymien muodostumisen, sillä niitä syntyi seulottuun maamassaan vasta kokeen edetessä. Surfaktantin käyttö ei silmämääräisesti arvioituna vähentänyt ilmiötä.

Maamassan häiriintyminen näytteenoton yhteydessä pienellä tilavuuksilla on suhteellisen suurta. Suomen ympäristökeskuksen vastaavissa koejärjestelyissä laboratorioon tuotujen näytteiden mikrobiaktiivisuus oli korkeampaa kuin maassa näyttäisi olevan, mikä johtui oletettavasti haitta-aineiden paranevasta saatavuudesta näytteen häiriintyessä (Tuomi ym. 2004, 36). Kokeessa käytetty siirretty, säilötty ja seulottu maa on oletettavasti haitta-aineiden saatavuuden kannalta hyvin erilaista kuin varsinainen kunnostettava maa. Kokeen alussa mitattu pitoisuus oli vain noin kolmanneksen kohteessa mitatusta huippupitoisuudesta.

8.2 Kohdealueen in situ -kunnostus

Pilot-kokeesta saatiin tietoa nesteenkierrätyksen ja erityisesti syklodekstriinin positiivisesta vaikutuksesta öljypitoisuuksien laskuun ja mikrobien määrän lisääntymiseen. Prosessin pysähtymisen takia olisi kuitenkin syytä selvittää pilot-koetta jatkamalla mikrobikasvua rajoittavat tekijät ja vaihtoehdot käytettävälle surfaktantille. Veden ja mahdollisesti myös surfaktantin kierrättäminen saastuneen alueen maamassassa antaa oletettavasti tuloksia myös kohdealueella. Jatkotutkimuksen tarpeesta huolimatta kohdealueella voidaan kierrättää pelkkää vettä jo ennen käytettävän surfaktantin valikoimista. Menetelmä on edullinen ja saattaa vähentää käytettävän surfaktantin tarvetta kunnostuksen myöhemmässä vaiheessa. Menetelmällä kierrätettävään nesteeseen ei myöskään liukene yhtä paljon dieseliä kuin syklodekstriinikäsittelyillä ja samaa nestettä voidaan kierrättää pidempään. Kentällä nähdään, kuinka lähellä haluttuja pitoisuuksia päästään pelkällä vesihuuhtelulla.

Mikäli hapenpuute oli pilot-kokeessa mikrobien kasvua rajoittava tekijä, hapen lisääminen vetyperoksidina ei ole tarpeeksi tehokasta. Pilot-kokeella on syytä selvittää vaihtoehtoinen toimintamalli aerobisten reaktioiden ylläpitämiseksi. Vaikka vetyperoksidi säilyi liuoksessa nesteen läpikulkeutumiseen kuluneen ajan, suuremilla neste- ja maatilavuoksilla se saattaa hajota jo ennen maan syvempiä kerroksia. Pilot-kokeessa peroksidinesteet reagoivat kiivasti jo ennen imeytymistään maamassaan, ja nesteen läpimenoon kulunut aika oli noin 15-kertainen muihin käsittelyihin verrattuna.

Urean 10:1 annostelusuhde oli liian korkea ja mikäli urea valikoituu typenlähteeksi kunnostettavaan kohdemaahan, sen kerta-annosta on syytä pienentää ratkaisevasti ja lisäystiheyttä mahdollisesti vastavaavasti nostaa. Urealle ei ole esitetty käyttökelpoista vaihtoehtoa. Hitaammiin tyyppä vapauttava metyleeniurea ei sovellu käytettäväksi alueella, sillä se pitäisi sekottaa maamassaan.

LÄHTEET

- Chaillan, F., Chaîneau, C. H., Point, V., Saliot, A. & Oudot, J. 2006. Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. *Environmental Pollution* 144(2006): 255-265
- Del Valle, M. 2004. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochemistry* no. 39 (2004): 1033-1046
- Giovannetti, G., 2009. Patent application title: Decontamination process of wide land areas. [verkkodokumentti] [viitattu 28.4.2010] Saatavissa: <http://www.faqs.org/patents/app/20090255176#ixzz0mOLyRWW1>
- Goi, A., Trapido, M., Kulik, N. 2009. Contaminated Soil Remediation with Hydrogen Peroxide Oxidation. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 52 2009: 185-189
- Goi, A., Trapido, M., Kulik, N., Palmroth, M.R.T., & Tuhkanen, T. 2006. Ozonation and fenton treatment for remediation of diesel fuel contaminated soil. *Ozone: Science and Engineering*, no. 28: 37-46
- Hyman, M. & Dupont, R. 2001. Groundwater and soil remediation process design and cost estimating of proven technologies. ASCE
- Kauppi, S. 2006. Öljyllä pilaantuneen maan biologisen hajotuksen tehostaminen, pro-gradu tutkielma. Helsingin yliopisto, biotieteellinen tiedekunta
- Khalladi, R., Benhadiles, O., Bentahar, F. & Moulai-Mostefa, N. 2009. Surfactant remediation of diesel fuel polluted soil. *Journal of Hazardous Materials* 164 (2009): 1179-1184
- Kondo, E. 2006. Ritsoremediaatio öljyllä saastuneen maan biopuhdistusmenetelmänä, pro-gradu tutkielma. Helsingin yliopisto, maatalous-metsätieteellinen tiedekunta.

Loftsson, T. What are cyclodextrins? [verkkodokumentti] [viitattu 27.7.2010]

Saatavissa:

http://www.eurocdsoc.com/index.php?option=com_content&view=article&id=67:what-are-cyclodextrins&catid=37:article

Martins, V. G., Kalil, S. J. & Costa, J. A. V. 2009. In situ bioremediation using biosurfactant produced by solid state fermentation. *World J Microbiol Biotechnol* (2009) 25: 843-851

Molnár, M., Leitgib, L., Gruiz, K., Fenyvesi, É., Szaniszló, N., Szejtli, J. & Fava, F. 2005. Enhanced biodegradation of transformer oil in soils with cyclodextrin – from the laboratory to the field. *Biodegradation* (2005) 16: 159-168

Overdahl, C. J., Rehm, G.W. & Meredith, H. L. 1991. Fertilizer Urea. University of Minnesota Extension [verkkodokumentti] [viitattu 15.6.2010] Saatavissa:

<http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystems/dc0636.html>

Oxford, A. & Oxford, E. Chemistry and the nitrogen cycle. Alaska agriculture in the classroom [verkkodokumentti] [viitattu 8.9.2010] Saatavissa:

http://www.alaskafb.org/~akaitc/alaskaAITC/pdf/9_12/chemistry_nitrogen.pdf

Penttinen, R. 2001. Maaperän ja pohjaveden kunnostus – Yleisimpien menettelyjen esittely. SYKE.

Pyy, O. 2009. Maaperän pilaantuminen ja sen puhdistaminen. Suomen ympäristökeskus, ympäristövahinkoyksikkö [verkkodokumentti] [viitattu 10.9.2010] Saatavissa: http://www.vatek.fi/pdf/maaperan_pilaant_ja_puhdistaminen_outi_p.doc.

Romantschuk, M., Hatakka, A., & Tuhkanen, T. 2007 Pilaantuneen maan in situ kunnostus kattavaksi (Biokunto), projektisuunnitelma.

Tarasov, A. L., Borzenkov, I. A., Milekhina, E. I., Mysyakina, I. S. & Belyaev, S. S. 2004. Utilization of H_2O_2 as the oxygen source by bacteria of the Genera *Pseudomonas* and *Rhodococcus*. *Microbiology* vol 73, No. 4, 2004: 392-397

Tran, A. 2007. Maan huuhtelu, kirjallinen esitys. Teknillinen korkeakoulu [verkodokumentti] [viitattu 10.9.2010] Saatavissa:

http://www.tkk.fi/Yksikot/Rakennus/Pohja/Ymp_tiedostot/Maan_huuhtelu.pdf

Tuomi, P. & Vaajasaari K. 2004. Monitoroidun luontaisen puhdistumisen (MLP) käyttö pilaantuneiden alueiden kunnostuksessa. Suomen ympäristökeskus

Vesa, M. 2008. Elektrokineettisen käsittelyn optimoiminen öljyllä pilaantuneen maan puhdistamiseksi, pro-gradu tutkielma. Helsingin yliopisto, biotieteellinen tiedekunta.

Wacker Fine Chemicals. Cavamax® and Cavasol® Cyclodextrins - The innovator's molecule, tuote-esite. Saatavissa:

<http://www.wacker.com>